

THESIS

MUNICH

1966

**Veränderungen
in der Differentialblutsenkung (DBS)
nach Wärmebehandlung
von Plasma und Serum**

HELMUT STETTER

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der medizinischen Abteilung des Stadtkrankenhauses
in Kempten (Allgäu)

Chefarzt: Dr. med. habil. F. Frimberger

VERÄNDERUNGEN IN DER DIFFERENTIALBLUTSENKUNG (DBS) NACH
WÄRMEBEHANDLUNG VON PLASMA UND SERUM

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Helmut Stetter
aus Kempten (Allgäu)

München 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. F. Frimberger

Mitberichterstatter: Prof. Dr. W. Seitz

Dekan: Prof. Dr. R. Zenker

Tag der mündlichen Prüfung: 9. 8. 1966

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung	1
Zum besseren Verständnis (Vorbemerkung zur Theorie der BKS)	2
Methode der Differentialblutsenkung	3
Eigene Untersuchungen:	
Veränderungen in der DBS nach Wärme- behandlung von Plasma und Serum	6
Aufgabenstellung	6
Beschreibung der Versuche und deren Ergebnisse	7
Zur Theorie der Blutsenkungsreaktion	27
Gesamtauswertung	30
Aktivität der Geline in Abhängigkeit von der Erwärmung	30
Versuch der Ausdeutung der Ergebnisse	35
Zusammenfassung	37
Literatur	41
Lebenslauf	43

EINLEITUNG

Durch die von Frimberger entwickelte Methode der Differentialblutsenkung ist auf dem Gebiet der Blutsenkungsreaktion nicht nur für die Praxis, sondern erst recht für wissenschaftliche Forschungsaufgaben eine ganz neue Situation entstanden. War man bisher auf die globalen Senkungswerte angewiesen, die auch dann, wenn man experimentell das Hämatokritvolumen auf konstante Höhe bringt, eine nur schwer überschaubare Beziehung zu den zugrundeliegenden Faktoren des Plasmas aufweisen, so erhält man nun als Maß Ballungseinheiten, die zur Wirksamkeit des Plasmas in linearer Beziehung stehen. Darüber hinaus ist es mit dieser Methode aber auch möglich geworden, Serum nicht weniger genau als Plasma mit der Senkungsreaktion zu prüfen und aus dem Vergleich auch exakte Werte für die Wirksamkeit des Fibrinogens zu gewinnen. Unter diesen somit ganz neuen methodischen Bedingungen ließen sich die nachfolgend beschriebenen Versuche erfolgreicher durchführen, als dies mit bisher üblichen Senkungsmethoden möglich gewesen wäre.

Zum besseren Verständnis

des folgenden seien dem Kapitel "Zur Theorie der Blutsenkungsreaktion" (S.27) einige Andeutungen vorweg entnommen:

1. Die Senkungsgeschwindigkeit der Erythrocyten wird neben der klinisch zu vernachlässigenden Abhängigkeit von der Viskosität des Plasmas bzw. des Serums entscheidend von ballungsfördernden Eiweißkörpern beeinflusst. Diese Eiweißkörper werden von Frimberger unspezifisch als Plasma- bzw. Serumgeline bezeichnet. Innethalb der Plasmageline entwickelt speziell das Fibrinogen eine stark ballungsfördernde Eigenschaft.
2. Um die Ballungswirksamkeit der Geline zum Tragen kommen zu lassen, ist eine gewisse Agglomerabilität der Erythrocyten Voraussetzung.
3. Das Hämatokritvolumen gilt als weiterer senkungsbeeinflussender Faktor.

Methode der Differentialblutsenkung (DBS)

Die Summe der senkungsbestimmenden Faktoren in einer Blutprobe ergibt bei der DBS nach 45 Minuten einen Wert, der dem 1-Stundenwert bei der Westergren-Methode entspricht. Der Grund für die höhere Senkungsgeschwindigkeit bei der DBS ist in der geringeren Verdünnung des Plasmas bzw. des Serums zu suchen.

Neben der komplexen Senkungsgeschwindigkeit ermöglicht die Methode darüber hinaus eine quantitativ exakte Bestimmung des Hämatokritvolumens, der Serumgeline und des Fibrinogens. Diese Faktoren sind mit keiner anderen Methode mit so geringem Aufwand an Arbeit und Geräten derart verlässlich zu ermitteln. In ihrer Leistungsfähigkeit darf die DBS neben die Elektrophorese gestellt werden.

Die Methode der DBS wird in zwei Pipetten mit einer Portion Plasmablut und einer Portion Serumblut durchgeführt. Dazu wird ein Zentrifugenglas mit 0,04 ccm 25%iger Natriumcitratlösung und ein anderes mit derselben Menge 5,92%iger Kochsalzlösung beschickt. Der Vorteil dieser minimalen Verdünnung liegt, wie erwähnt, in einer entsprechend geringfügigen Beeinflussung der Senkungsgeschwindigkeit. Die Kochsalzlösung dient dazu, die zweite Blutportion auf dieselbe Verdünnung und dieselbe Ionenkonzentration zu bringen.

Die Blutentnahme (4 - 5 ccm) erfolgt zweckmäßigerweise mit einer 5 ccm-Spritze, die vorher mit physiologischer Kochsalzlösung gleitfähig gemacht wurde. 2 ccm Venenblut gibt man sofort in das Glas mit Citratlösung, verschließt es mit dem Daumen und mischt durch mehrmaliges Kippen gut durch. In das zweite Glas kommen ebenfalls 2 ccm Blut, die anschließend mindestens 15 Minuten defibriniert werden.

Das Defibrinieren erfolgt mit Hilfe eines kannelierten Drehstabes aus Plexiglas o.ä., der vorne mit einer Metallspitze versehen ist, um die mechanische Hämolysen auf ein Mindestmaß zu reduzieren. Das Zentrifugenglas wird in einer geeigneten Halterung hinter eine Plattfeder geklemmt und der Drehstab durch einen kleinen Elektromotor angetrieben. (Genaue Beschreibung des Defibrinators bei Frimberger.)

Das Fibrinogen fällt im gerinnenden Blut aus und wickelt sich in Form von Schlieren, Fäden und Ringen um den Drehstab.

Nachdem das Blut sämtlicher zu untersuchender Patienten derart vorbehandelt wurde, beginnt man, die Portionen paarweise aufzuziehen und die Pipetten in den Halter zu stellen. Nach 45 Minuten wird die Senkung abgelesen und das Ge-

stell um 45° gekippt. Nach weiteren 45 Minuten erfolgt die zweite Ablesung. Beide Werte werden notiert. Die Ablesezeit gilt für Zimmertemperatur von 20° C. Bei höheren Temperaturen wird korrigiert, indem man pro 1° C eine Minute früher abliest.

Zur Schrägstellung der Pipetten ist zu sagen, daß dadurch eine erhebliche Beschleunigung der Senkung herbeigeführt wird; ein Phänomen, das schon zahlreiche Wissenschaftler (Bycott, Brinkman, Wastl, Berczeller, Linzenmeier, Kaufmann, Balachavski, Lundgren, Westergren u. a.) beschäftigt hat und für die Theorie der Senkung von Bedeutung war. Bei der Schrägstellung treffen die senkrecht fallenden Erythrocyten und Agglomerate diejenigen, die an der Wand des geneigten Röhrchens abrollen. Hinzu kommt, daß sich nicht der gesamte Plasmastrom durch das zellige Material durchzwängen muß; er nimmt hauptsächlich den Weg an der oberen Wand des Röhrchens.

Nach dem Ablesen der Zweitwerte füllt man eine Recordspritze mit Polyviol-lösung ("Lösung für Minimalsediment" nach Frimberger), setzt eine 11 cm lange Hohlneedle auf und füllt die Pipetten blasenfrei bis nahe an den oberen Rand, kippt die Gestelle um 180° und läßt die Erythrocyten in die Lösung fließen. Nach ca. 15 Minuten kippt man abermals um 180° und liest am nächsten Tag an der in die Pipetten eingravierten, gegenläufigen Skala das Minimalsediment von unten her in Prozenten ab. Entscheidend ist hierbei das Minimalsediment des Plasmablutes, da durch die Entnahme des Fibrins und daranhängender Erythrocyten Verschiebungen im Serumblut eintreten können.

Mit Hilfe einer Tabelle bestimmt man nun die Plasma- und Serumgeline. Man sucht dazu oben in der Tabelle das entsprechende Minimalsediment auf und geht in der senkrechten Spalte bis zur Summe der beiden Senkungswerte, geht nach links und liest hier unmittelbar die Ballungswirksamkeit der Geline in Ballungseinheiten (BE) ab. Die Differenz der Plasmageline und Serumgeline ergibt somit die Ballungswirksamkeit des Fibrinogens. Man muß sich darüber im klaren sein, daß hier nicht eine gewichts- oder volumenmäßige Erfassung der Geline erfolgt, sondern daß ihre erythrocytenballende Kraft in Einheiten gemessen wird, die - vergleichbar mit Temperaturgraden - willkürlich definiert sind. Für das Fibrinogen ist nach Horster und Schlüter eine Umrechnung in mg % nach folgender Formel annähernd möglich:

$$\text{Fibrinogen (mg \%)} = \frac{\text{BE} \cdot 100}{6}$$

Für die Serumgeline, die bisher nur mit dieser Methode meßbar geworden sind, kann es eine solche Beziehung vorerst nicht geben.

Als Nebebefunde mögen das Aussehen von Plasma und Serum, das eventuell auf eine bestehende Bilirubinämie oder Lipämie hinweisen kann und die in der Senkung überstehende Leucocyten-schicht erwähnt werden. Ist diese Schicht höher als 1 %, so liegt die Leucocytenzahl über 6000, doch kann bei deren Fehlen eine Leucocytose aus unbekannten Gründen nicht ausgeschlossen werden.

Als Normzonen gibt Frimberger folgende Werte an:

		Männer	Frauen
45' Senkungswert	mm	0 - 5	0 - 10
Hämatokrit	%	40 - 50	36 - 46
Fibrinogen	BE	10 - 15	10 - 15
Serumgeline	BE	15 - 22	15 - 22

Bezüglich der diagnostisch und klinischen Auswertung der DBS sei auf die Veröffentlichungen von Frimberger u. a. hingewiesen.

Zusammenfassung:

Zur Differentialblutsenkung werden unwesentlich verdünntes Citratblut und defibriniertes (Serum-)Blut in ionengleicher Lösung in geeigneten Pipetten aufgezogen. Nach 45 Minuten erfolgt Ablesung und Kippen der Pipetten um 45°. Nach weiteren 45 Minuten werden die Senkungswerte erneut abgelesen, die Pipetten mit der ballungsfördernden "Lösung für Minimalsediment" angefüllt, Lösung und Erythrocyten durch Kippen um 180° gemischt und am nächsten Tag in den zurückgekippten Pipetten an einer, von unten gegenläufigen Skala das Minimalsediment in Prozenten abgelesen.

Von Minimalsediment und Summe der Senkungswerte ausgehend, ermittelt man anhand einer Tabelle Plasma und Serumgeline in Ballungseinheiten (BE). Die Differenz von beiden ergibt das Fibrinogen.

"Die Blutsenkungsreaktion ist durch die Methode der DBS zu einer gut fundierten, mehrschichtigen Reaktion geworden, die nun auch wissenschaftlichen Anforderungen vollauf genügen kann." (Frimberger)

Eigene Untersuchungen:

Veränderungen bei der Differentialblutsenkung nach Wärmebehandlung von Plasma und Serum

Aufgabenstellung:

Es war die Aufgabe gestellt, zu ermitteln, ob und welchen Einfluß eine Erwärmung von Plasma und Serum auf den Verlauf der Blutkörperchensenkungsreaktion nimmt. Bei der Lösung dieser Aufgabe sollte nach dem von Frimberger erarbeiteten Verfahren der Differentialblutsenkung (DBS) vorgegangen werden.

Beschreibung der Versuche und deren Ergebnisse

Der Aufgabenstellung folgend ergab sich zwangsläufig die Anordnung und Durchführung des Grundversuches:

Um eine Änderung in der Senkungsreaktion bei vorangegangener Wärmebehandlung von Plasma und Serum feststellen zu können, ist es unerlässlich, für die verschiedenen Temperaturstufen Material von ein und demselben Patienten oder Probanden zu verwenden.

Die Blutentnahme erfolgte stets gemeinsam mit den Entnahmen für die laufenden klinischen Untersuchungen oder vor Verabreichung einer intravenösen Injektion. Die meisten Patienten waren zur Behandlung einer länger zurückliegenden Apoplexie, einer dekompensierten Rechtsinsuffizienz, eines erhöhten Blutdrucks verschiedener Genese oder zur Abklärung verschiedenartiger Symptome in stationärem Aufenthalt. Es muß jedoch erwähnt werden, daß bei der Blutentnahme nicht auf die Art der Erkrankung, sondern ausschließlich auf den Allgemeinzustand der Patienten geachtet wurde. Eine besondere Berücksichtigung der Diagnose lag nicht in der Aufgabestellung.

Für den Grundversuch wurden einem Patienten zwei Blutproben zu je 20 ccm entnommen. Jede dieser Proben wurde mit einer der Methode der DBS entsprechenden Menge (0,4 ccm pro 20 ccm Blut) 25%iger Natriumcitrat- bzw. 5,92%iger Kochsalzlösung versetzt und gut durchgemischt. Die zweite Probe (mit NaCl) wurde sofort unter Zuhilfenahme eines mit Latexschlauch armierten Glasstabes, manuell durch Rühren defibriniert. Es standen dann von jedem Patienten eine Portion Plasmablut und eine Portion Serumblut zu je 20 ccm zur Verfügung. Diese Menge reichte für mindestens fünf Senkungspaare. Selbstverständlich wäre eine größere Blutmenge zweckmäßiger gewesen und hätte die Arbeit erleichtert, doch mußte aus Rücksicht auf die Patienten darauf verzichtet werden. Nur in einigen wenigen Fällen konnte Aderlaßblut, das zu therapeutischen Zwecken (z.B. Polyglobulie) abzunehmen war, verwendet werden.

Beide Proben wurden anschließend zentrifugiert. Serum und Plasma wurden mit Pipetten abgesaugt und in geeigneten Portionen auf verschiedene Zentrifugengläser verteilt, die im Wasserbad mit einem Thermostaten in der Regel 20 Minuten auf der gewünschten Temperatur gehalten wurden. Abweichungen von dieser Erwärmungszeit werden im folgenden eigens erwähnt. Um Veränderungen des Wassergehaltes in Plasma oder Serum möglichst auszuschließen, wurden die Zentrifugengläser während des Erwärmens verschlossen gehalten.

Die zelligen Anteile des Blutes wurden währenddessen zur Befreiung von Plasma-

oder Serumresten mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Sie wurden dazu im Verhältnis 1 : 3 mit Kochsalzlösung aufgeschwemmt, gut durchgemischt und anschließend bei 4000 Umdrehungen/Minute 20 Minuten lang zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit sowie die Leucocytschicht wurden dann mit Hilfe einer Blutzuckerpipette (enges Lumen) und der Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Diese Prozedur erfolgte dreimal hintereinander, so daß die Erythrocyten zum Schluß praktisch ganz von Plasma oder Serum befreit waren. Die aus Plasmablut und Serumblut gewonnenen Erythrocytensuspensionen wurden zuletzt innig miteinander vermischt, um für sämtliche Senkungen eine möglichst gleiche Ausgangsbasis zu gewinnen. Durch nochmaliges Zentrifugieren wurde schließlich ein reiner Erythrocytenbrei hergestellt.

Aus demselben Grunde mußte versucht werden, das Hämatokritvolumen in allen Proben nach Möglichkeit gleich einzustellen; in den ersten Versuchen auf 47 %, in allen späteren auf 33 %. Die Einstellung erfolgte in den letzten Fällen dadurch, daß für jede Einzelprobe zu 1, 20 ml Plasma oder Serum 0, 60 ml Erythrocytenbrei hinzupipettiert wurde, nachdem Plasma oder Serum der Versuchsanordnung entsprechend vorbehandelt worden waren.

Zur Herstellung von 47 % Hämatokritvolumen kamen auf 0, 80 ml Plasma oder Serum 0, 70 ml Erythrocytenbrei. Daß in der Ablesung des Minimalsediments, das als Maß für das Hämatokritvolumen fungierte, letztlich doch Schwankungen um 3 - 4 % nach oben gefunden wurden, liegt an der hohen Viskosität des Erythrocytenbreies und der damit verbundenen Schwierigkeit des Pipettierens. Außerdem lagern sich die Erythrocyten in der Senkungspipette nicht so vollständig zusammen wie in der Zentrifuge. Frimberger gibt einen diesbezüglichen Unterschied von 5 % der Sedimenthöhe an.

Die in geschilderter Weise erhaltenen Gemische von gewaschenen Erythrocyten und vorbehandeltem Plasma oder Serum wurden nun in DBS-Pipetten aufgezogen und diese paarweise aufgestellt. Ablesung, weitere Behandlung und Auswertung erfolgten völlig gemäß der Methode der DBS. Schwankungen der Raumtemperatur wurden durch entsprechend variierte Ablesezeiten berücksichtigt.

Bei Erwärmung des Plasmas trat ab 47° C eine Trübung auf, die in den Versuchen (1) mit (6) belassen und ab Versuch (7) durch Zentrifugieren beseitigt wurde. An gegebener Stelle wird darauf hingewiesen werden; ebenso auf den Einfluß dieser Trübung auf die Senkungsreaktion.

Temperaturbereich

Der Temperaturbereich, in dem Plasma und Serum erwärmt wurden, erstreckt sich von 20° - 60° C.

Hinweis

Sämtliche Versuche sind mit arabischen Zahlen in Klammern durchnummeriert; z. B. Versuch (8). Wenn in einem Versuch von mehreren Patienten Blut untersucht wurde, so werden diese mit Großbuchstaben innerhalb des Versuches gekennzeichnet und mit dem Zeichen des Geschlechts (z. B.: m) versehen. Es bedeutet also "(3) D m" einen Hinweis auf das im Rahmen des Versuches (3) untersuchte Blut des männlichen Patienten D.

Versuchsergebnisse

Bei Versuch (1) wurde Plasmablut von drei männlichen Patienten verwendet. Es sollte hierbei erst einmal grob ermittelt werden, ob im gesamten Temperaturbereich einschlägige Änderungen auftreten und wo diese in etwa gesucht werden müßten. Die fünf Fraktionen wurden deshalb ziemlich weit gestreut und zwar auf Zimmertemperatur (20° C), Körpertemperatur (37° C), Inaktivierungstemperatur von Komplement usw. (56° C) und den Endpunkt der Skala bei 60° C. Zusätzlich wurde noch eine Fraktion bei 30° C hergestellt.

In allen drei Probenreihen zeigte sich, daß die Senkungsgeschwindigkeit bei Behandlung des Plasmas mit Temperaturen, die zwischen Zimmertemperatur und physiologischer Temperatur liegt, keine Änderungen ergibt. Die geringfügigen Schwankungen der globalen Senkungswerte hatten, wie sich bei der Berechnung des Ballungsfaktors in Ballungseinheiten zeigte, ihre Ursache in den verschiedenen Minimalsedimenten.

Man ersieht daraus die experimentelle Zuverlässigkeit der Ballungseinheiten im Vergleich mit den einfachen Senkungswerten. Diese sind nur Hilfwerte, während für die Beurteilung der Plasma- oder Serumwirkung nur die Ballungseinheiten als exakter Maßstab zu gebrauchen sind.

Bei allen drei Patienten fand sich dagegen ein enormer Sturz der Ballungseinheiten zwischen 37° C und 56° C. Bei 60° C lagen die Werte wieder höher.

Tabelle 1 soll anhand von (1) A m die Situation veranschaulichen.

Tempe- ratur	45' mm	+45' mm	45+45' mm	Min. Sed. %	Plasma BE
20° C	13	85	98	39	38
30° C	12	80	92	41	39
37° C	11	82	93	40	38
56° C	1	31	32	40	19
60° C	4	61	65	40	30

Wir sehen also bei 20° - 37° C eine praktisch gleichbleibende Ballungswirkung (38 - 39 - 38 BE), dann den starken Abfall bei 56° C und einen unvollständigen Wiederanstieg bei 60° C.

Es ist wichtig, zu erwähnen, daß in den Fraktionen 56° und 60° C die Erythrocytensäule nicht glatt, sondern wolkig-krümelig aufgelockert und stellenweise sogar unterbrochen war. Die Senkungswerte konnten zwar noch mit einiger Genauigkeit abgelesen werden, man mußte aber doch mit Behinderung des Senkungsvorganges und entsprechender Reduzierung der Meßwerte und damit auch der Ballungseinheiten rechnen.

Nach dem Ergebnis dieses ersten Versuches war es naheliegend, den Bereich zwischen 37° und 56° C näher zu untersuchen. (Außerdem wurden ab hier Plas-mablut und Serumblut nebeneinander verwendet.)

Versuch (2) brachte für Plasma keine sicheren Ergebnisse, da die Ballungseinheiten des Plasmas unregelmäßig ausfielen und kaum Gemeinsamkeiten aufwiesen. Dagegen zeigten die Ballungseinheiten des Serums bei allen vier Probenreihen im Bereich von 37° - 53° C einen gleichmäßig horizontalen Verlauf und in zwei Fällen von 50° - 56° C einen leichten Anstieg. Eigentümlich erschien, daß in zwei Fällen zwischen 48° und 53° C die Ballungswirkung des Plasmas geringer wurde als die des Serums. Aus der routinemäßigen Berechnung der Ballungswirkung des Fibrinogens ergäbe sich daraus durch dieses Eiweiß eine Ballungshemmung.

Versuch (3) ergab bei fünf Probenpaaren einen sehr ähnlichen Verlauf; zwischen 37° und 40° C für das Plasma gleichbleibende oder leicht ansteigende Werte.

zwischen 40° und 45° C geringfügigen und dann zwischen 45° und 48° C sehr steilen Abfall der Ballungseinheiten, der bis 52° C anhielt, aber flacher wurde. Auch hier wiederum "Hemmung" durch Fibrinogen im Bereich von 48° bis 52° C.

Der interessante Temperaturbereich konnte somit nach den Ergebnissen der Versuche (2) und (3) auf 45° bis 52° C eingengt werden, wobei im einzelnen der steile Wirkungsabfall des Plasmas zwischen 45° und 48° C, sowie der Moment des Absinkens der Ballungswirkung des Plasmas unter die des Serums näher beleuchtet werden sollen.

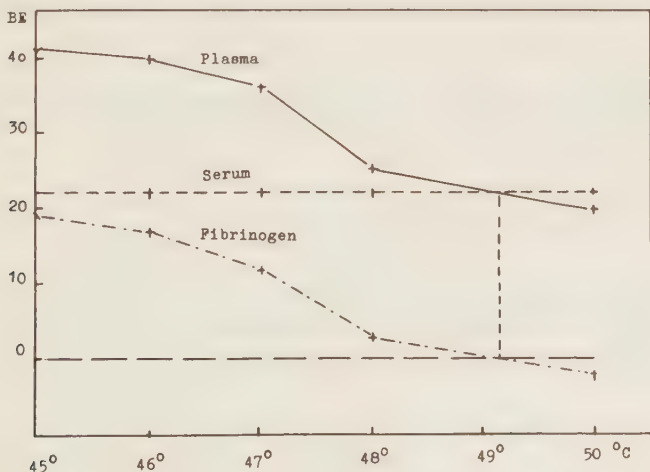
Versuch (4) bestätigte und fixierte die Ergebnisse der vorangegangenen Versuche. Die Senkungen wurden mit den Fraktionen 37° , 43° , 45° , 47° und 50° C ausgeführt.

In den Versuchen (5) und (6) wurde in engerer Staffelung mit Fraktionen von 45° , 46° , 47° , 48° , 50° C bzw. 46° , 47° , 48° , 49° , 50° C gearbeitet.

Aus den drei, zuletzt beschriebenen Versuchen ergab sich, daß der erwähnte steile Wirkungsabfall des Plasmas zwischen 45° und 48° C (50° C) regelmäßig wiederkehrte und in seinem Verlauf von Fall zu Fall keine Besonderheiten aufweist.

Die Kurven der Ballungseinheiten des Serums zeigten nach dem anfangs streng waagerechten Verlauf in 11 von 18 Fällen einen leichten Anstieg bei 48° C oder in der Nähe liegender Temperaturen.

Mit Abb. 1 soll diese typische Verlaufsänderung der Ballungswirksamkeit von Plasma und Serum als Ergebnis von (4) B m veranschaulicht werden.



Man erkennt das stetige Absinken der Ballungswirkung des Plasmas im Bereich von 45° - 50° C. Der Bereich des steilsten Abfallens liegt zwischen 47° und 45° C. Die Wirksamkeit des Serums zeigt jedoch im gesamten Temperaturbereich keine Veränderung und hält sich konstant in einer Ebene. Bei $49,2^{\circ}$ C erfolgt eine Überkreuzung der beiden Kurven, d. h. die Sedimentierung der Erythrocyten erfolgt im Serum schneller als im Plasma. Fibrinogen nimmt entsprechend seiner Berechnung als Differenz aus Plasma- und Serumwirkung einen zur Änderung der Plasmawirkung parallelen Verlauf. Seine Werte unterschneiden bei $49,2^{\circ}$ C die Nulllinie, so daß es ab diesem Punkt als hemmend erscheint.

Diese Erscheinung ist keineswegs ein alleinstehendes Zufallsergebnis, sondern konnte bisher in 15 von 17 Fällen eindeutig beobachtet werden und wurde ebenso in den nachfolgenden Versuchen mit Sicherheit festgestellt. Der Punkt, an dem die Ballungswirkung des Fibrinogens zur (scheinbaren?) Hemmung wird, fand sich in 4/5 aller Fälle zwischen 48° und 50° C. Er sei als "Umschlagspunkt" bezeichnet und zusätzlich mit einer I versehen. Der Grund für letzteres ergibt sich aus den Ergebnissen späterer Versuche.

Anmerkung

Wenn die Senkungsverlangsamung jenseits des Umschlagspunktes I, die sich formal aus der "negativen" Ballungswirkung - also scheinbaren "Ballungshemmung" - des Fibrinogens ergibt, als "Ballungshemmung" bezeichnet wird, so stellt dies eine vereinfachende Ungenauigkeit, dar, denn es ist ebenso möglich, daß das Fibrinogen lediglich in eine senkungshemmende Form übergeht, ohne eine tatsächliche Hemmung der Agglomeration herbeizuführen. (Es sei diesbezüglich auf das Kapitel "Versuch der Ausdeutung der Ergebnisse" (S. 35) hingewiesen).

Für die Berechnung des Mittelwertes für Umschlagspunkt I (UP I) stehen aus den Versuchen (2) (3) (4) (5) (6) insgesamt 15 Werte zur Verfügung:

(2) B $52,0^{\circ}$ C	(4) A $47,6^{\circ}$ C	(5) A $48,7^{\circ}$ C
D 48,0	B 49,2	B 48,0
	C 50,0	C 49,7
(3) A 48,6	D 49,7	D 49,6
C 51,5		
		(6) A 49,7
		B 49,6
		C 49,8

Die Gesamtsumme $741,7 : 15$ ergibt einen Mittelwert für

UP I bei $49,45^{\circ}\text{C}$

Zu den Versuchen (1) mit (6) war Plasma verwendet worden, in dem die bei der Erwärmung über 47°C entstandene Trübung und Flockung belassen wurde. Diese führten oftmals zur Unterbrechung der Erythrocytensäule, so daß den bisherigen Resultaten eine gewisse Unsicherheit anhaftet. Um diese zu beseitigen und volle Klarheit zu schaffen, wurde ab Versuch (7) das Plasma durch scharfes Zentrifugieren völlig geklärt und konnte somit der Sedimentierung der Erythrocyten keinen abnormen Widerstand mehr entgegensetzen. Wie sich dabei herausstellte, können die Ergebnisse der Versuche (1) mit (6) grundsätzlich anerkannt werden, obwohl eine gewisse Verschiebung in den Werten festzustellen ist. (Siehe unten und Abb. 9).

Bei Versuch (7) stand von einem Patienten eine größere Menge Aderlaßblut zur Verfügung. Es sollte hieran geprüft werden, ob die Zeitdauer der Erwärmung einen zusätzlichen Einfluß auf die Senkung ausübt. Dazu wurden Plasma und Serum in entsprechenden Portionen auf 45° , 47° und 49°C je 10, 20 und 40 Minuten erwärmt. Nach dem Abkühlen wurde getrübbtes Plasma zentrifugiert und damit wie oben verfahren.

Bei diesem Versuch nahm die Zeitdauer der Erwärmung von 10 Minuten aufwärts keinerlei Einfluß auf die Senkung des Serumblutes.

Tabelle 2: Einfluß der Zeitdauer der Erwärmung auf die Serumwirkung (in BE)

Zeit der Erwärmung	Temperaturen		
	45°C	47°C	49°C
10 min	28 BE	28 BE	27 BE
20 min	27	27	27
40 min	28	26	28
Größte Differenz	1	2	1

Dieses Ergebnis war insofern zu erwarten, als die Temperaturen im bisher behandelten Bereich auf die Ballungswirkung des Serums ohnehin keinen oder nur geringsten Einfluß haben. Folglich wird auch eine längere Wärmebehandlung daran kaum etwas ändern.

Deutlich anders verhält es sich bei Plasma:

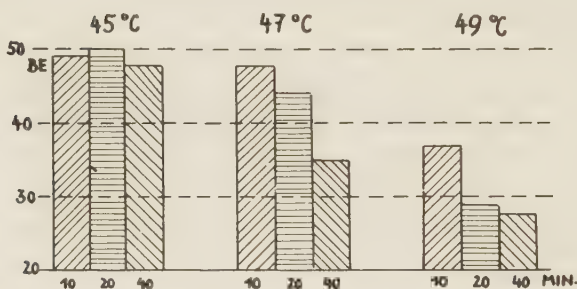
Tabelle 3:

Einfluß der Zeitdauer der Erwärmung auf die
Plasmawirkung (in BE)

Zeit der Erwärmung	Temperaturen		
	45° C	47° C	49° C
10 min	49 BE	48 BE	36 BE
20 min	50	44	29
40 min	48	35	28
Größte Differenz	2	13	8

Abb. 2:

Einfluß der Zeitdauer der Erwärmung auf die
Plasmawirkung (in BE) (graph. Darst.)



Die Fraktionen von 45°, 47° und 49° sind in drei Säulen nebeneinander aufgetragen. Die Ordinate bezeichnet die Ballungswirkung des Plasmas in BE. Der linke Teil jeder Säule stellt die Ballungswirkung der jeweiligen Fraktion nach 10 Minuten, der mittlere nach 20 Minuten und der rechte nach 40 Minuten Erwärmung dar. Die Ballungswirkung des Plasmas erfährt bei 45° C keine nennenswerte Änderung durch längeres Erwärmen. Selbst eine vierfache Erwärmung bewirkt nur eine Änderung um 1 BE, ein Wert, der durchaus im Bereich der Fehlergrenze liegt.

Bei 47° C ist eine sehr deutliche Abhängigkeit von der Dauer der Wärmebehandlung zu erkennen. Bei einer Erwärmung von 10 Minuten bleibt noch dieselbe Ballungskraft wie bei 45° C nach beliebiger Erwärmung bestehen. Eine doppelt so lange Erwärmung (20 Minuten) senkt jedoch die Ballungswirkung bei 47° C schon um 4 BE, während eine nochmals doppelt so lange Erwärmung die gemessenen Ballungseinheiten sogar um 13 BE senkt.

Bei der 49° C Fraktion tritt schon nach 10 Minuten eine beträchtliche Verminderung der Ballungseinheiten auf. Bei 20 Minuten dauernder Erwärmung kommt es zur weiteren Verminderung, es macht dann aber kaum mehr etwas aus, wenn man das Plasma weitere 20 Minuten, insgesamt also 40 Minuten auf 49° C hält.

In Tabelle 4 wurden die verbliebenen Ballungseinheiten des Plasmas in Prozenten ausgedrückt. Den Bezugspunkt von 100 % bildet die Fraktion von 45° C bei einer Erwärmung von 10 Minuten.

Tabelle 4

Temperatur	Dauer der Erwärmung		
	10'	20'	40'
45° C	100 %	102, 0 %	97, 9 %
47° C	97, 9 %	89, 4 %	71, 4 %
49° C	73, 5 %	59, 2 %	57, 2 %

Ein kurzer Ausdeutungsversuch sei hier des Verständnisses halber vorgezogen:

Bei 45° C steht das Fibrinogen dicht vor der Umwandlung in ein ballungsunwirksames Denaturierungsprodukt, doch bleibt es bei dieser Temperatur auch nach 40minütiger Erwärmung noch voll wirksam. Seine Fadenmolekel haben offensichtlich noch keinen Schaden gelitten. Bei einer Erwärmung auf 47° C ist dieser Umwandlungsprozeß bereits in vollem Gange und es wird mehr Fibrinogen denaturiert und koaguliert, je länger die Erwärmung dauert. Aber auch nach 40 Minuten ist dieser Vorgang noch nicht abgeschlossen.

Erst bei 40° ist nach 20 Minuten **fast sämtliches** verfügbare Fibrinogen ausgefallen (UP I). Daher die große Differenz in der Ballungswirkung zwischen 10 und 20 Minuten Erwärmung (14, 3 %). Die geringe Differenz von nur 2 % zwischen 20 und 40 Minuten Erwärmung kann letzten Resten von Fibrinogen entsprechen, könnte aber auch ein Meßfehler sein.

In Versuch (7a) wurde nach demselben Prinzip vorgegangen wie in Versuch (7). Verwendet wurde allerdings nur Plasmablut desselben Patienten wie bei (7), da der Patient während des therapeutisch indizierten Aderlasses zu kollabieren drohte und daher die volle Blutmenge nicht zu entnehmen war. Da in Versuch (7) das Verhalten des Serumblutes eindeutig festgestellt worden war, konnte auf neuerliche Senkung mit Serumblut verzichtet werden. Vom Plasmablut wurden jeweils drei Fraktionen zu 46°, 47°, 48°, 49°, 50° und 51° C hergestellt und 10, 20 und 40 Minuten im Wasserbad erwärmt.

Folgende Ergebnisse in BE wurden gefunden:

Tabelle 5

Erwärm- zeit	Temperaturen					
	46° C	47° C	48° C	49° C	50° C	51° C
10 min	61 BE	57 BE	43 BE	42 BE	38 BE	30 BE
20 min	66 ⁺⁾	50	36	30	30	30
40 min	59	37	29	27	29	29

⁺⁾ Sehr wahrscheinlich zu hoch gemessener Wert

Tabelle 6: Zur Umrechnung in Prozente wurden 57 BE = 100 % gesetzt, obwohl dieser Wert in Bezug auf die Erwärmung bis nur 46° C bereits deutlich erniedrigt war (Siehe Tab. 5)

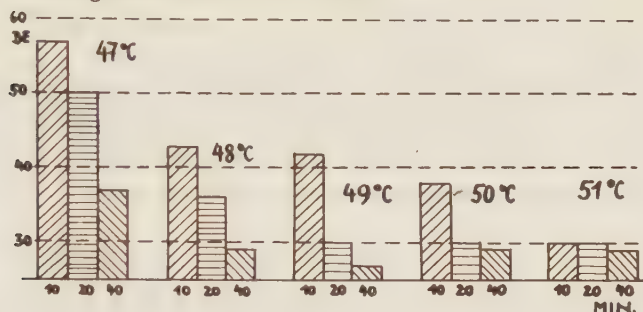
Temperatur	Dauer der Erwärmung		
	10'	20'	40'
47° C	100 %	87,7 %	64,9 %
48° C	75,4 %	63,2 %	50,9 %
49° C	73,7 %	52,6 %	50,9 %
50° C	66,6 %	52,6 %	50,9 %
51° C	52,6 %	52,6 %	50,9 %

Während bei 47° C das Plasma bei einer Erwärmung von 40 Minuten eine Einbuße seiner Ballungswirkung um 35,1 % gegenüber einer Erwärmung von 10 Minuten erfährt, beträgt dieser Leistungsabfall bei 50° C nur noch 15,7 % und geht bei 51° C sogar auf 1,7 % zurück, was in Ballungseinheiten ausgedrückt nur mehr 1 BE beträgt. Das heißt unter Berücksichtigung der methodischen Fehlerbreite, daß bei Erwärmung des Plasmas auf 51° C der volle Leistungsabfall schon nach 10 Minuten erreicht war.

Bei 47° C geht der Inaktivierungsprozeß des Fibrinogens ziemlich proportional der Erwärmungszeit, was aus Abb. 3 gut ersichtlich ist. Je 10 Minuten Erwärmung nimmt die Ballungskraft des Plasmas bei dieser Temperatur etwa um 7 BE ab. Der Leistungsabfall pro Minute beträgt in diesem Fall also etwa 1,2 % oder 0,7 BE (genauer: 0,67 BE).

Bei 48°C läuft der Vorgang zu Beginn der Erwärmung etwa doppelt so schnell ab, wie zu Ende, denn der Leistungsabfall ist nach 20 Minuten gegenüber 10 Minuten ebenso groß (7 BE) wie nach 40 Minuten gegenüber 20 Minuten Erwärmzeit. Bei 50°C beträgt der Leistungsabfall zwischen 20 und 40 Minuten sogar nur noch ein Zehntel dessen zwischen 10 und 20 Minuten und bei 51°C ist letztlich die volle Inaktivierung des Fibrinogens schon nach 10 Minuten abgeschlossen.

Abb. 3 Einfluß der Zeitdauer der Erwärmung auf die Ballungswirksamkeit des Plasmas



Bei 48°C ist alles Fibrinogen nach einer Erwärmzeit von 40 Minuten inaktiviert, bei 49° und 50°C schon nach 20 Minuten und bei 51°C bereits nach 10 Minuten.

Dieses Ergebnis erlaubt eine Vermutung, warum UP I nicht bei allen Plasmen bei derselben Temperatur gefunden wird:

Bei Plasma, das einen hohen Anteil an Fibrinogen aufweist, wird bei einer Erwärmung von nur 20 Minuten auf z.B. $48^{\circ} - 49^{\circ}\text{C}$ noch immer ein gewisser Rest aktiven Fibrinogens zurückbleiben, während bei vergleichsweise niedrigerem Fibrinogengehalt schon nach kürzerer Erwärmzeit die Ballungswirkung des Fibrinogens ausgeschaltet sein wird. Darüber hinaus dürfte die Qualität des Fibrinogens einen nicht zu unterschätzenden Einfluß haben.

Es gilt somit:

Die Lage von UP I ist abhängig:

1. von der Temperaturhöhe
2. von der Dauer der Wärmebehandlung

und vermutlich auch

3. vom Fibrinogengehalt des Plasmas
4. von der Hitzebeständigkeit (Qualität) des Fibrinogens.

Die Abhängigkeit des Umschlagpunktes I vom Fibrinogengehalt des Plasmas sei anhand dreier Ergebnisse früherer Versuche dargestellt:

Die Patienten (3) C m und (4) D w hatten reichlich Fibrinogen mit 28 bzw. 34 BE. Bei ihnen lag der UP I bei $49,7^{\circ}$ bzw. $51,5^{\circ}$ C, während das Plasma (4) A m mit nur 3 BE Fibrinogen seinen UP I bereits bei $47,6^{\circ}$ C erreichte. Allerdings fehlte für diesen Versuch die Reproduktion und somit die Kontrolle, so daß die oben gegebene Ausdeutung vorerst unsicher bleibt.

Da die völlige Inaktivierung des Fibrinogens nach Abb. 3 bei 48° C nach 40 Minuten Erwärmung zu erreichen ist, möglicherweise auch schon bei entsprechend längerer Behandlung bei 47° C, ist es notwendig, sämtliche Ergebnisse bei der Beurteilung in diesem Temperaturbereich in Relation zur Zeit zu setzen. Es sei nochmals darauf verwiesen, daß in allen Versuchen, bei denen nichts anderes angegeben wird, eine Erwärmung von 20 Minuten durchgeführt worden ist.

Bei den Versuchen (8) und (9) wurden Fraktionen von 46° , 47° , 48° , 49° und 50° C hergestellt. Nach der Wärmebehandlung ab 47° C und höher traten Trübungen auf, die durch Zentrifugieren entfernt wurden.

Die Kurven zeigten durchwegs den typischen Verlauf, der uns auch in den vorhergegangenen Versuchen begegnet war. Die UP I streuten um den errechneten Mittelwert von $49,45^{\circ}$ C und lagen bei hohem Fibrinogengehalt im allgemeinen bei höheren Temperaturen als bei niedrigerem Fibrinogengehalt.

Versuch (10) befaßte sich neuerlich mit der Ballungswirkung des Plasmas in Abhängigkeit von der Erwärmdauer. Von vier Patienten wurde Plasmablut auf die Fraktionen 48° und 50° C je 20 bzw. 40 Minuten erwärmt.

Auch hier ergab sich zwischen den Behandlungszeiten die größte Differenz der Ballungseinheiten des Plasmas bei den niedrigeren Temperaturen. Erwartungsgemäß lagen die Ballungseinheiten bei 20 Minuten Erwärmung stets höher als bei 40 Minuten.

In Tabelle 7 werden die Ergebnisse von Versuch (10) zusammengefaßt

Tabelle 7

Tempe- ratur	Differenzen der BE bei Erwärmung des Plas- mas über 40 Minuten gegenüber 20 Minuten				
	A	B	C	D	Mittel
48° C	9	12	7	3	7,7
49° C	3	2	1	0	1,5
50° C	0	1	0	0	0,25

Wie ersichtlich, nimmt die Abhängigkeit der Ballungswirkung des Plasmas bei höheren Temperaturen von der Dauer der Wärmebehandlung auch nach den Ergebnissen dieses Versuches ab und verliert sich bei 50° C.

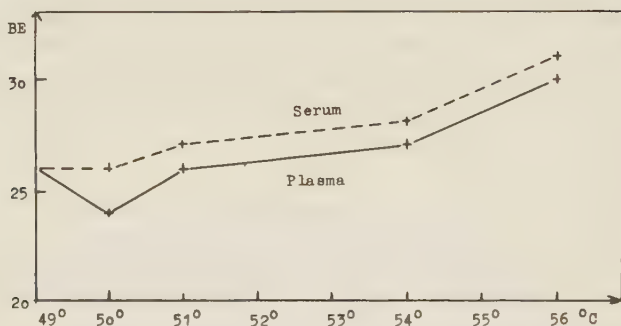
Nachdem das Verhalten des Plasmas bei Temperaturen unter 50° C ausreichend geklärt zu sein scheint und am Serum in diesem Temperaturbereich keine Veränderungen festgestellt werden konnten, soll durch

Versuch (11) ein höherer Temperaturbereich untersucht werden.

Plasma- und Serumblut wurden von vier Patienten in gewohnter Weise entnommen und in Fraktionen je 30 Minuten auf 49°, 50°, 51°, 54° und 56° erwärmt. Die in sämtlichen Plasmafraktionen aufgetretenen Trübungen wurden entfernt.

In allen Fällen lag UP I bei 49° C oder nur wenig darunter. Es wäre nun zu erwarten gewesen, daß nach Herausnahme des Fibrinogens Plasma und Serum daselbe Verhalten zeigen. Dies war jedoch nicht der Fall. Die Ballungswirkung des Serums lag ab UP I stets um 1 - 4 BE höher als die des Plasmas, woraus sich also ein ebenso großer Wert an Hemmung durch Fibrinogen errechnete. (Siehe Abb. 4)

Abb. 4 Ermittelte BE von Plasma und Serum zwischen
UP I und 56°C (11) A m



Im Gegensatz zu den Ergebnissen bei niedrigeren Temperaturen hat das Serum bei Temperaturen über UP I eine (scheinbar?) höhere Ballungswirkung als das Plasma.

Schließlich konnte noch festgestellt werden, daß ab UP I eine Veränderung im Gesamtverlauf der Kurven eintrat. Während bis UP I die Ballungswirkung des Plasmas mehr oder weniger stetig abnahm und die des Serums praktisch konstant blieb, beginnt nun die Wirkung von Plasma und Serum zuzunehmen und zwar jeweils etwa in demselben Maße, so daß nun die Kurven für Plasma und Serum parallelverlaufend ansteigen.

UP I scheint somit nicht nur für das Fibrinogen einen Wendepunkt zu bedeuten, sondern es scheinen darüber hinaus auch entscheidende Veränderungen im Serum stattzufinden, die natürlich an den dem Serum entsprechenden Bestandteilen des Plasmas ebenfalls angreifen und dadurch den Parallelverlauf der beiden Kurven bewirken.

Einen ausgezeichneten Überblick über das Verhalten von Plasma und Serum im gesamten Temperaturbereich ergaben die

Versuche (12) und (14), die deshalb gemeinsam besprochen werden sollen.

Aus 300 ccm Aderlaßblut, das nach den Grundsätzen der DBS abgenommen wurde, wurden Serum und Plasma gewonnen, in entsprechende Portionen aufgeteilt und jeweils 15 Minuten auf Temperaturen von 46° bis 60°C mit jeweils 1°C Unterschied erwärmt. Zum Vergleich wurde bei Versuch (12) ein Senkungspaar mit unbehandeltem Plasma und Serum, aber mit gewaschenen Erythrocyten aufgezogen. Trübungen wurden abzentrifugiert.

Als Bestätigung früherer Ergebnisse wurde bei Versuch (12) festgestellt, daß die Wirkung von Plasma und Serum in einem Bereich zwischen 20° und 46° C kaum eine Änderung erfährt. Während Serum bei 46° C genau dieselbe Ballungswirkung wie bei 20° C aufweist, steigt die Ballungswirkung des Plasmas um den praktisch belanglosen Wert von 1 BE (von 31 auf 32 BE) an.

Im übrigen brachten beide Versuche einen weitgehend übereinstimmenden Kurvenverlauf und enthalten die nach früheren Versuchen zu erwartenden Charakteristika. (Siehe Abb. 5 und 6)

Von 46° bis 49° (50°) C zeigt das Plasma in beiden Kurven einen ziemlich starken Abfall der Ballungswirkung. Das Serum, das sich vorher (insbesondere in Versuch (12)) um einen gleichbleibenden Wert bewegt, steigt nun parallel zur Ballungswirkung des Plasmas an, bis bei 55° bzw. $57,2^{\circ}$ C die Ballungswirkung des Plasmas wiederum die des Serums übertrifft. Dieser Punkt, bei dem eine neuerliche Überschneidung der beiden Kurven stattfindet, wird im folgenden, analog zu "Umschlagspunkt I" (UP I), als "Umschlagspunkt II" (UP II) bezeichnet.

Das Fibrinogen zeigt also bis UP I eine im grundsätzlichen bekannte Ballungswirkung, die zwischen 47° C und dem UP I bei $49,5^{\circ}$ C eine mit Koagulation einhergehende Einbuße erfährt. Im Bereich zwischen UP I und UP II messen wir im Plasma eine Ballungshemmung. Bei UP II (55° - 57° C) und höheren Temperaturen erlischt die Ballungshemmung im Plasma und scheint nun einer zusätzlichen Ballungswirkung zu weichen, denn die Leistungsfähigkeit des Plasmas übertrifft erneut die des Serums. Die dabei gemessene und errechnete Ballungswirkung des Fibrinogens bzw. der Fibrinogenreste erreicht dabei sogar annähernd dieselbe Stärke wie im unbehandelten Plasma.

Bei Versuch (14) und später bei Versuch (17) wurden von verschiedenen Fraktionen (20° , 48° , 50° , 60° C) Elektrophoresen des Serums durchgeführt. (Siehe Abb. 7)

Mit fortschreitender Erhöhung der Temperaturen machen die Globulinfraktionen in der Kurve den Eindruck, in Richtung auf die α -Globuline gestaucht zu werden, so daß bei 56° C der Gipfel der α_2 -Globuline die übrigen Maximalpunkte merklich überragt und bei 60° C schließlich neben der Albuminzacke nur noch die stark überhöhte Zacke der α_2 -Globuline dargestellt ist.

Im einzelnen wird festgestellt, daß bei 48° C eine deutliche Erhöhung der β -Zacke eintritt, während sich die γ -Zacke ab 48° C mit steigender Temperatur zunehmend erniedrigt. Bei 56° C überragt die α (α_2)-Zacke bereits die der

Abb. 5

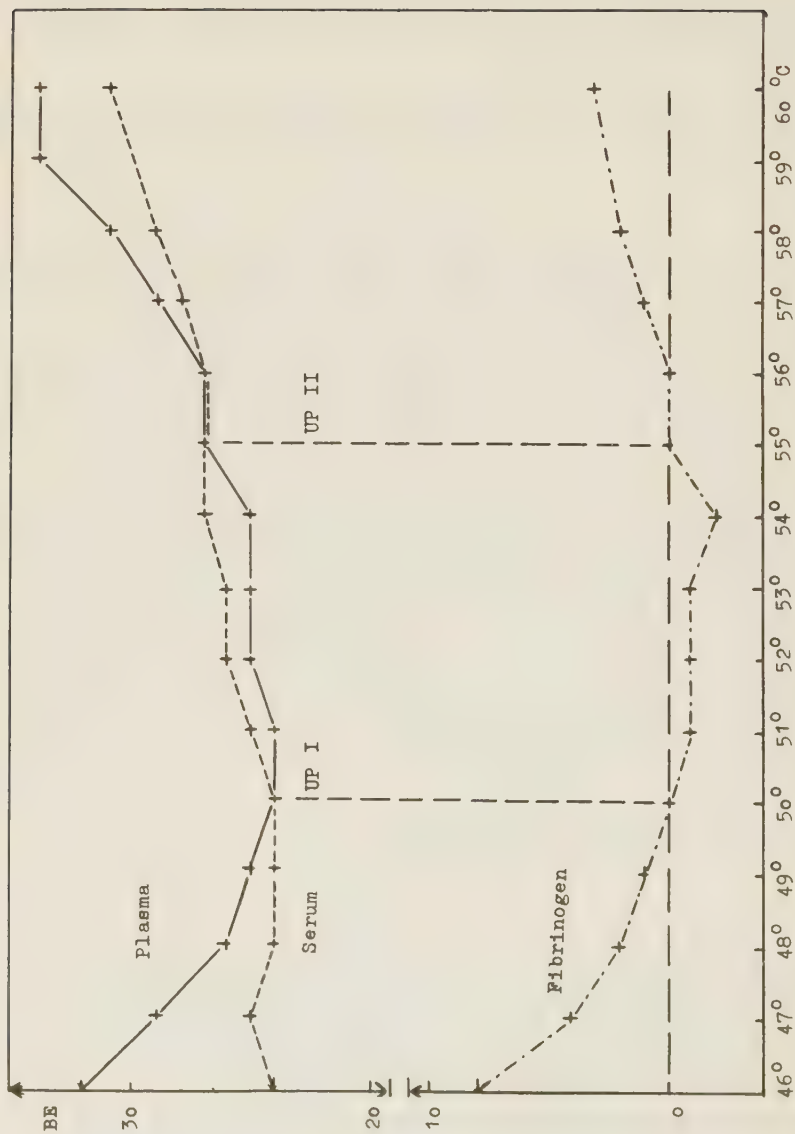


Abb. 6

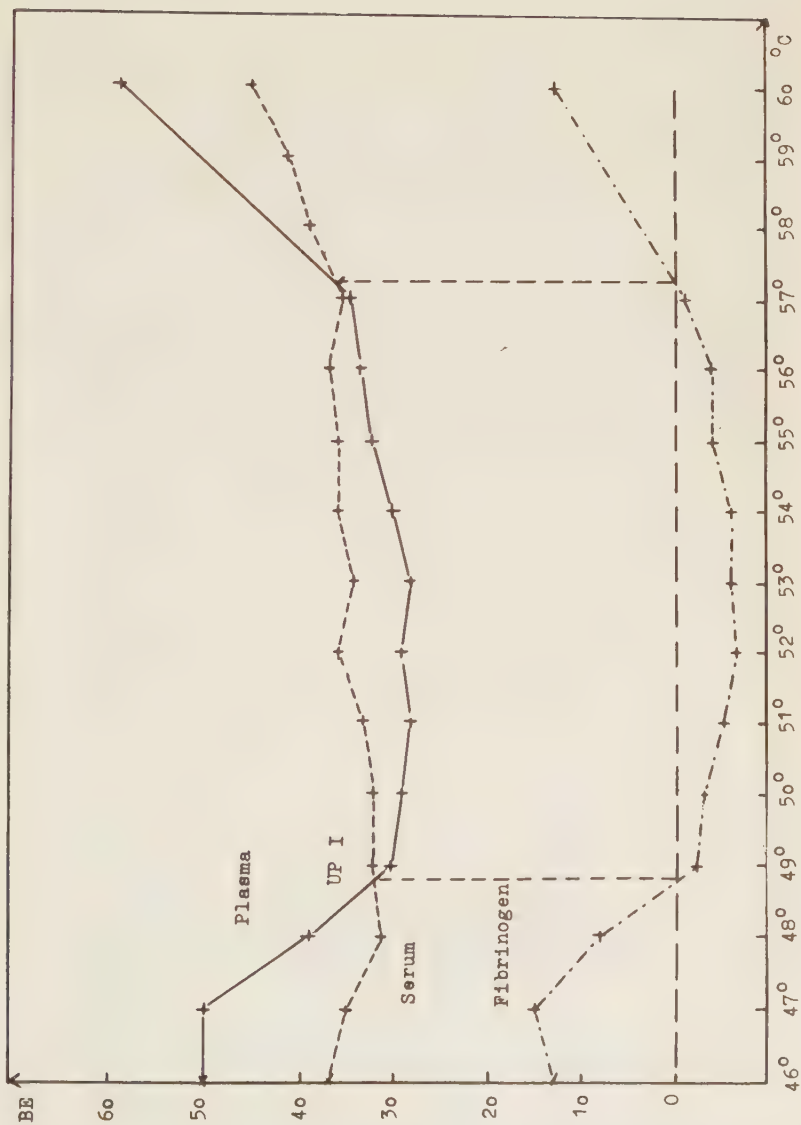
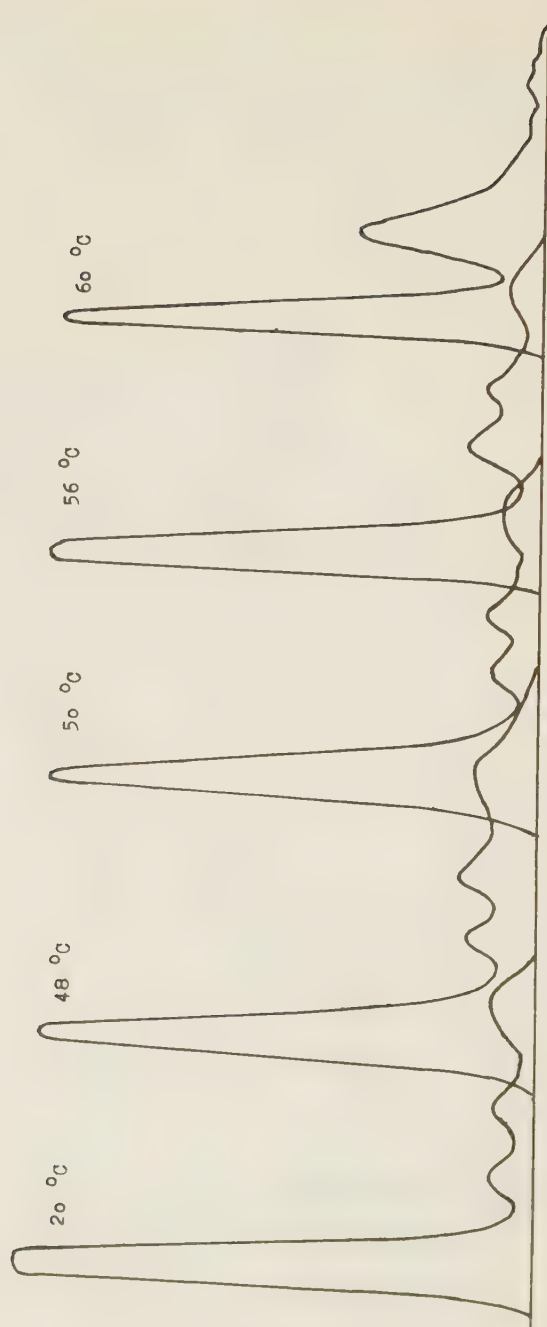


Abb. 7

Veränderungen in der Elektrophorese
nach Wärmebehandlung des Serums



β -Globuline und bleibt bei 60°C praktisch als einzige Globulinfraktion bestehen, während die übrigen Globulinfractionen nurmehr geringfügige Erhöhungen in der Kurve hervorrufen.

Es scheinen sich unter der Wärmeeinwirkung sämtliche Globuline derart zu verändern, daß ihre Wandergeschwindigkeit im elektrischen Feld der der α_2 -Globuline gleichkommt. Hand in Hand mit dieser Verschiebung geht der Anstieg der Ballungswirkung des Serums. Die Klärung, worauf diese Veränderungen beruhen und wie weit sie ursächlich miteinander verbunden sind, geht über den Rahmen dieser Arbeit hinaus und übertrifft das Aussagevermögen der zur Verfügung stehenden Untersuchungsmethoden.

Die Versuche (13) (15) (16) erfassen den Temperaturbereich zwischen 54°C und 58°C . Die früheren Ergebnisse, insbesondere auch bezüglich des Vorhandenseins und der Lage von UP II fanden sich dabei vollkommen bestätigt.

Für die Lage von UP II ergaben sich aus diesen und früheren Versuchen folgende Werte:

(12)	55,0 $^{\circ}\text{C}$	(15)	A 57,9 $^{\circ}\text{C}$
(13)	A 56,0		B 58,4
	B 57,6		C 58,6
	C 55,0		D 57,7
	D 56,0	(16)	A 58,2
(14)	57,2		B 58,6

UP II findet sich also stets in dem Bereich von 55° bis 59°C . Es ergibt sich der

Mittelwert für UP II bei $57,1^{\circ}\text{C}$.

Die Versuche (17) und (18) befassen sich nochmals mit der Bedeutung der Dauer der Wärmebehandlung für die Erythrocytensenkung.

Versuch (17) sollte mit Fraktionen von 46° , 47° , 48° , 49° und 50°C die Lageverschieblichkeit von UP I bei einer 40minütigen Erwärmung gegenüber einer 15minütigen ermitteln, während bei

Versuch (18) dieselbe Untersuchung, bezogen auf UP II, mit den Fraktionen 55° , 56° , 57° , 58° und 59°C durchgeführt wurde.

In beiden Fällen ergab sich, daß die Lage der Umschlagspunkte durch 40minütiges Erwärmen um 1°C gegenüber einer Erwärmzeit von nur 15 Minuten gesenkt werden konnte.

Zur Theorie der Blutsenkungsreaktion

Über die Ursachen der Blutsenkungsreaktion hat man sich verschiedene und nicht immer übereinstimmende Vorstellungen zurechtgelegt. Zum Teil gründen sich diese auf Tatsachen, die außerhalb des Gebietes der Blutsenkungsreaktion, nämlich mehr allgemein im Rahmen kolloidchemischer Forschungen bekannt geworden sind, zum Teil auf Erfahrungen aus der praktischen Anwendung am Krankenbett, zum Teil aber auch auf gerichtete Experimente, auf Experimente also, die mit ganz bestimmter Fragestellung unternommen worden sind.

Insgesamt haben alle Bemühungen bisher noch zu keiner Theorie geführt, die man als allgemein anerkannt bezeichnen könnte. Es dürfte richtig sein, den Vorgang der Blutsenkungsreaktion für die Theorie zunächst einmal nach Frimberger klar aufzuteilen

- a) in jene Vorgänge, die mit der reversiblen Ballung der Erythrocyten zu tun haben und
- b) in die mit dem Absinken der Erythrocyten im stehenden Blut verbundenen Vorgänge.

Zwar weiß man schon seit Fahraeus, daß der Erythrocytensedimentierung die reversible Ballung zugrundeliegt, es sind aber beide Vorgänge - reversible Ballung und hierauf sich gründende Sedimentierung im Sinne der Blutsenkungsreaktion - bei Besprechungen über die Theorie doch nicht immer scharf genug getrennt worden.

Für die Theorie der Blutsenkungsreaktion ist demnach zu ergründen

- a) Ursache und Art der reversiblen Ballung der Erythrocyten und
- b) mechanische Vorgänge beim Sedimentieren der reversibel geballten Erythrocyten.

Über die Ursachen der reversiblen Ballung haben sich frühere Forscher (Fahraeus, Westergren, Theorell, Widström usw.) schon Gedanken gemacht und sind zu auch heute noch anzuerkennenden Vorstellungen gelangt.

Grobdisperse Plasmaproteine, voran das Fibrinogen und ferner die Globuline sind besonders gut wirksam, während dem Albumin auf Grund statistischer Erhebungen eine nur geringe oder sogar eine bremsende Wirkung zugeschrieben wurde. Daß

es für die reversible Ballung keinerlei Wirkung besitzt, scheint zum erstenmal Frimberger ausgesprochen und auch nachgewiesen zu haben (1942).

Auf Grund des Studiums der älteren Literatur mußte man annehmen, daß sämtliche Globuline auf die Erythrocyten eine ballungswirksame Eigenschaft besitzen. Jetzt scheint sich allerdings immer mehr herauszuschälen, daß es ganz bestimmte Globuline sind, die so wie Fibrinogen jene Eigenschaft besitzen, die Frimberger als mit Ballungsfaktor ausgestattet rein theoretisch ganz besonders herausgestellt hat. Es ist die Eigenschaft der ballungswirksamen Kolloide, sich an die Oberfläche der Erythrocyten anzuhängen, dabei ein klebriges Gel zu bilden und als Folge hiervon zur Verklebung von Erythrocyten im Sinne der reversiblen Ballung zu führen.

Es sei mir die Entscheidung erlassen, ob dieser Vorgang nach Frimberger und fast allen älteren Untersuchern unspezifischer Natur ist, oder ob er nach Ruhenstroth-Bauer nach den Regeln der durch inkomplette Antikörper zustandekommenden spezifischen Ballung sich vollzieht. Über diese Auseinandersetzung sind mehrere Veröffentlichungen erschienen, auf die verwiesen sei.

Frimberger hat die Methode der Differentialblutsenkung geschaffen, die praktisch und wissenschaftlich ausgezeichnet brauchbar ist, ja man darf sogar behaupten, sie stelle zur Zeit das Höchstmaß des methodisch Erreichbaren dar. Sie ist auch, wie erwähnt, der Ausgangspunkt für die vorliegende Studie und deshalb scheint es nicht vermessen und wohl auch nicht allzu einseitig, wenn in besonderem Maße auf die theoretischen und die hieraus folgenden praktischen Vorstellungen Frimbergers besonders Bezug genommen wird.

Nach seinen 1942 zusammengefaßt dargestellten Erkenntnissen liegen der reversiblen Ballung der Erythrocyten zwei Faktoren zugrunde. Diese sind

- a) der sog. Ballungsfaktor bestimmter Plasmaproteine und
- b) die Ballungsbereitschaft oder Agglomerabilität der Erythrocyten.

Der Ballungsfaktor stellt, wie schon vorher erwähnt, die Eigenschaft von Fibrinogen und bestimmter Globuline dar, sich an den Erythrocyten als klebriges Gel anzulagern und hierdurch die Erythrocyten zur reversiblen Verklebung zu bringen. Die Bezeichnung "Ballungsfaktor" war absichtlich sehr allgemein und doch auch sehr spezifisch gefaßt. Er umfaßt nicht nur die spezielle Eigenschaft des Fibrinogens und ganz bestimmter Serumglobuline, sondern auch die

ebenso in Erscheinung tretende Eigenschaft körperfremder Kolloide. Dazu zählen die im Gummi arabicum wirksamen Pektine und sonstige Pektine, Gelatine, einige synthetische Substanzen wie beispielsweise Kollidon usw.

Neben den Gelingen des Plasmas oder (ohne Fibrinogen) des Serums gehört aber zur reversiblen Ballung auch eine besondere Eigenschaft der Erythrocyten. Diese Eigenschaft besteht darin, daß sie auf die Geline in typischer Weise, nämlich mit deren Adsorption und der hierauf folgenden reversiblen Ballung antworten. Man nennt diese Eigenschaft seit langem Agglomerabilität der Erythrocyten. Frimberger spricht auch von Ballungsbereitschaft der Erythrocyten. Worauf diese Eigenschaft, die den Erythrocyten vieler Tiere fehlt, beruht, weiß man noch nicht. Nach Frimberger scheiden elektrische Ladungsunterschiede und Oberflächenspannung als Ursachen aus. Nach mündlicher Mitteilung neigt Frimberger in neuerer Zeit eher dazu, vorwiegend mechanische Momente anzunehmen, nämlich Rauigkeiten an der Erythrocytenoberfläche, an denen die Geline sich wie in einem Pelz verhängen.

Gesamtauswertung

Aktivität der Geline in Abhängigkeit von der Erwärmung

Um die Aktivitätsveränderungen der Geline bei verschiedener Erwärmung möglichst allgemein erfassen zu können, wurden die Mittelwerte sämtlicher Ergebnisse festgestellt. Mit Sicherheit falsche und stark streuende Werte wurden dabei weggelassen, um die Gesamtergebnisse nicht unnötig zu verfälschen. Bei den Versuchen (7), (7a) und (10) wurden selbstverständlich nur die Werte eingesetzt, die sich bei einer Erwärmung von 20 Minuten ergeben hatten.

Abb. 8 gibt einen Überblick über die Veränderungen der Ballungswirkung bei Erwärmen von Plasma und Serum. Die aufgetragenen Punkte stellen die Mittelwerte der Einzelergebnisse dar.

1. Die Ballungswirkung des Plasmas

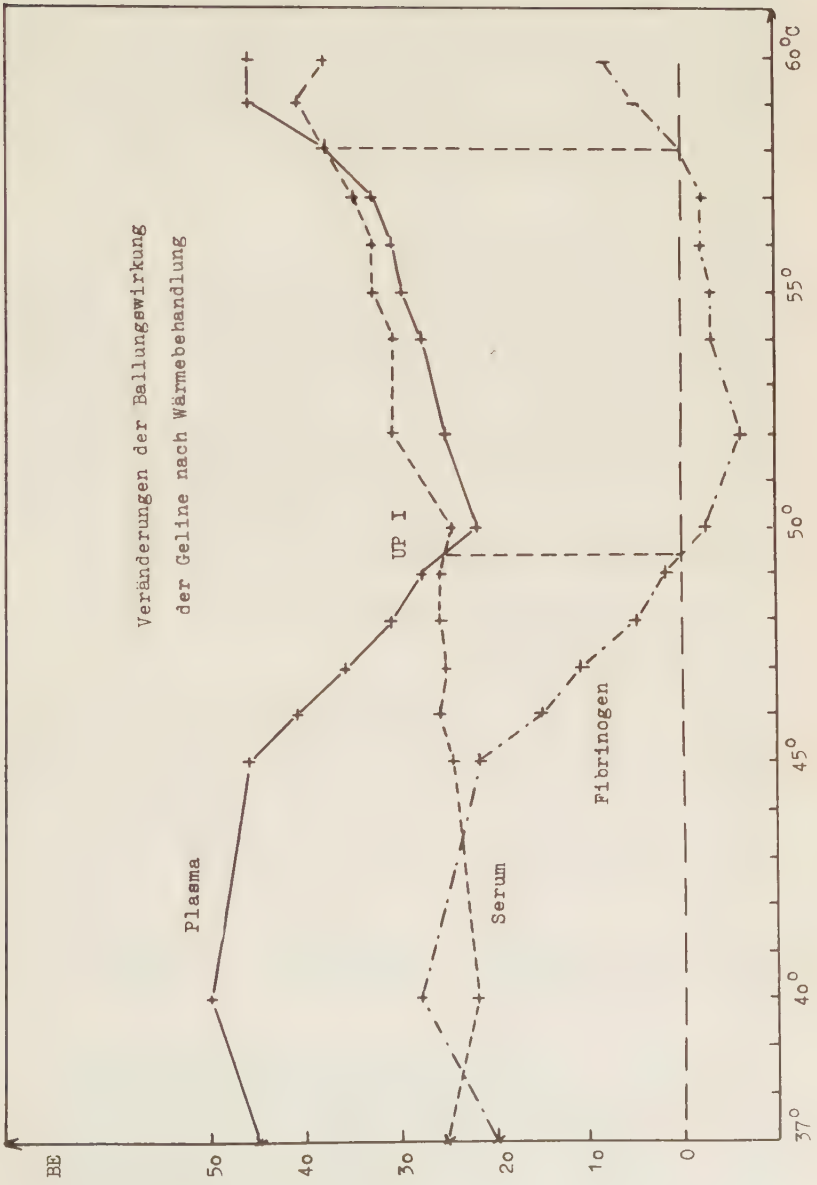
zeigt von Zimmertemperatur bis 37°C einen völlig gleichbleibenden Verlauf und ist weiter bis 45°C nur unbedeutenden Schwankungen unterworfen. Erst dann tritt eine augenfällige Veränderung insofern ein, als die Ballungswirkung im Bereich von 45° bis 50°C einen sehr steilen und gleichmäßigen Abfall erfährt. Bei 50°C erreicht das Plasma den Tiefpunkt seiner Ballungswirkung, denn von 50° bis 59° (60°) C nehmen die Ballungseinheiten langsam, aber stetig zu, wobei sich ab 57°C eine deutliche Beschleunigung der Zunahme verzeichnen läßt. Die Ballungswirkung der Fraktionen 59° und 60°C entspricht in etwa der des unbehandelten Plasmas und liegt bei 46 BE, obwohl nach Erwärmung des Plasmas reichlich Fibrinogen als Flockung und Trübung durch Zentrifugieren entfernt worden sind.

2. Die Ballungswirkung des Serums

zeigt bis zu ihrem Schnittpunkt mit der des Plasmas (UP I) praktisch keine Veränderungen. Die Kurve bewegt sich um eine Horizontale, die bei 25 BE liegt. Die aufgetretenen Schwankungen resultieren daraus, daß die Zahl der untersuchten Seren bei den einzelnen Temperaturen teilweise sehr unterschiedlich ist und dadurch die Mittelwerte stark streuen. Bei den Einzelversuchen ist die Schwankungsbreite bedeutend geringer.

Ab UP I erreicht die Ballungskraft des Serums einen höheren Wert als die des Plasmas und steigt gemeinsam mit dieser bis 57°C in etwa parallelem Verlauf stetig an. Ab 58°C überwiegt erneut die Ballungskraft des Plasmas und

Abb. 8



bildet damit UP II, während die Ballungskraft des Serums demgegenüber zurückbleibt und ihr Maximum bei 59°C mit 41 BE erreicht und somit 5 BE unter der maximalen Ballungskraft des Plasmas liegt. Ein Abfall der Ballungswirkung des Serums von 59°C auf 60°C um 2 BE kann möglicherweise einen Streuwert darstellen, bewirkt aber im Kurvenverlauf des Fibrinogens einen durchaus regelrechten Verlauf, so daß mit einem Abfall der Ballungswirkung bei Temperaturen über 59°C gerechnet werden kann, zumal auch die Ballungsfaktoren des Plasmas von 59°C auf 60°C keinen weiteren Anstieg erfahren.

3. Die Ballungswirkung des Fibrinogens

errechnet sich bekanntlich aus der Differenz der Ballungseinheiten des Plasmas und der Ballungseinheiten des Serums. Da das Serum bis UP I einen horizontalen Verlauf nimmt, ist es selbstverständlich, daß die Kurve des Fibrinogens bis zu diesem Punkt den Schwankungen des Plasmas folgt. Bei UP I verliert das Fibrinogen seine Ballungswirkung und wirkt nun hemmend auf die Sedimentierung der Erythrocyten, so daß die Kurve in einem flachen Bogen unter der Null-Linie verläuft, diese in UP II ein zweites Mal überschneidet und somit neuerdings eine senkungsfördernde Wirkung des Fibrinogens sicher anzeigt, die bis 60°C stetig zunimmt und schließlich durchschnittlich 8 BE erreicht.

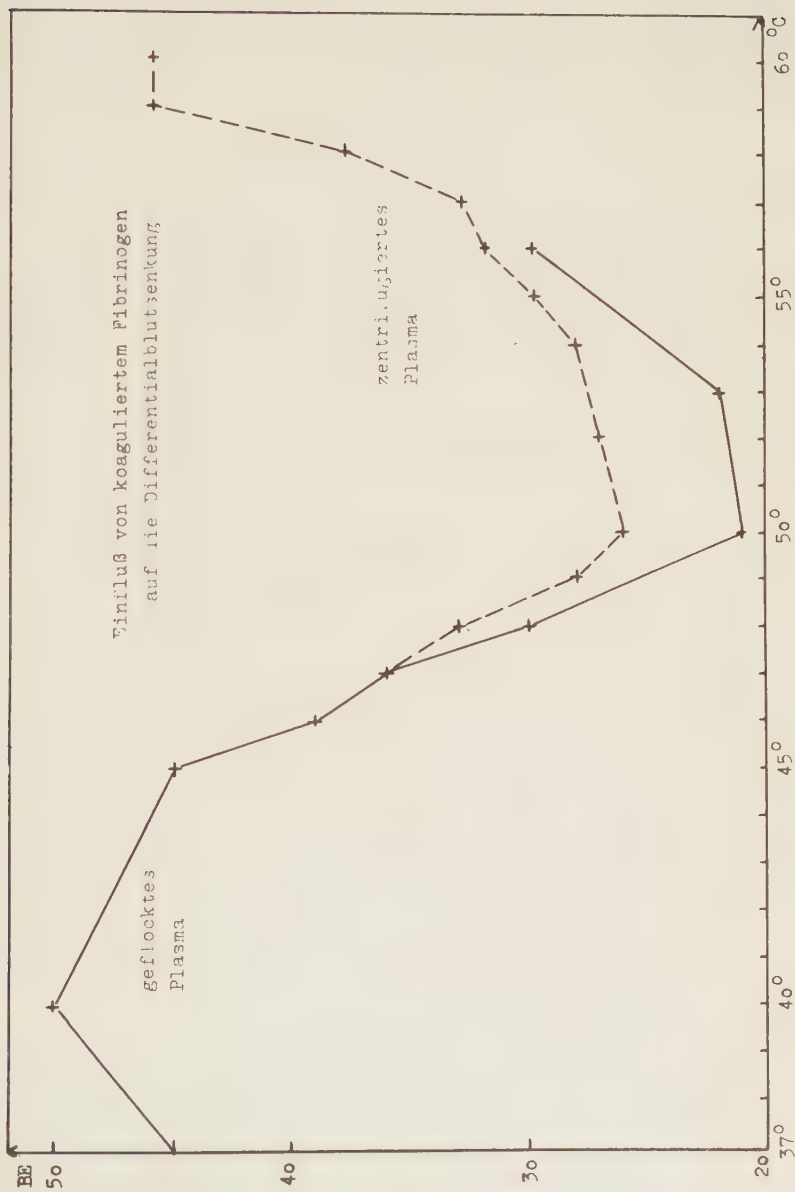
4. Der Einfluß des koagulierten Fibrinogens auf die Senkungsgeschwindigkeit

ist in Abb. 9 dargestellt. Hier wurden die Mittelwerte des zentrifugierten und des unzentrifugierten Plasmas gesondert aufgetragen. Ab 56°C wurde keine Senkung mehr in unzentrifugiertem Plasma durchgeführt, so daß die entsprechende Kurve hier endet. Wie beschrieben, tritt bei 47°C eine gut kenntliche Koagulation des Fibrinogens ein; es ist daher selbstverständlich, daß es erst ab hier einen getrennten Kurvenverlauf geben kann.

Die schon früher aufgeworfene Frage nach dem Einfluß der Trübung und Flokkung auf die Senkungsgeschwindigkeit kann nun im Vergleich mit gereinigten Plasmen beantwortet werden.

Grundsätzlich hat das Koagulat eine senkungshemmende Wirkung, doch darf mit einigem Recht angenommen werden, daß diese Senkungshemmung nicht auf einer Minderung der Erythrocytenballung beruht, sondern ein rein mechanischer Vorgang ist, indem die Sedimentierung der Erythrocytenagglomerate gebremst wird. Zeitweise verstopfen die Flocken sogar regelrecht das Lumen der Senkungspipette, so daß die Säule häufig abreißt und Unterbrechungen von

Abb. 9



1 cm und mehr aufweist. In den einzelnen Abschnitten der unterbrochenen Säule kommt es dann zusätzlich zu einer frühzeitigen Sackung der Erythrocytenagglomerate, denn wir haben hier eine ähnliche Situation, wie wenn mehrere Senkungen gleichzeitig nebeneinander in sehr kurzen Pipetten aufgezogen worden wären.

Versuch der Ausdeutung der Ergebnisse

In sämtlichen untersuchten Fällen konnte festgestellt werden, daß das Plasma von 45°C bis UP I (um $49,5^{\circ}\text{C}$) eine starke Verminderung seiner Ballungsfähigkeit erfährt. Da das Serum hingegen, zumindest in Bezug auf seine Ballungswirkung, in diesem Temperaturbereich unverändert bleibt, kann die Wirkungsminde- rung des Plasmas nur auf eine Veränderung des Fibrinogens zurückzuführen sein, die mit dem Verlust der Ballungswirkung verbunden ist.

Gleichzeitig mit dieser meßbaren Veränderung tritt ab 47°C im Plasma eine flockige Trübung auf, die im Serum nicht beobachtet wird und deshalb auf einer Koagulation des Fibrinogens beruhen muß. Für den Abfall der Ballungs- wirksamkeit des Plasmas kann jedoch die mechanische Behinderung der Sedi- mentation durch die Flocken nur in zweiter Linie verantwortlich gemacht wer- den, denn

1. wird der Leistungsabfall des Plasmas schon ab 45°C im noch völlig ungetrübten Plasma kennt- lich
2. bringt das Entfernen der Trübung und Flockung keine grundsätzlich andersartigen Ergebnisse (siehe Abb. 9).

Aus 1. folgt somit, daß das Fibrinogen nicht erst mit dem Moment der Koagu- lation bei 47°C , sondern schon früher, ungefähr bei 45°C abgebaut wird, denn hier beginnt der steile Abfall der Ballungswirkung des Plasmas. Mit einiger Si- cherheit darf also angenommen werden, daß das Fibrinogen bei Temperaturen von 45°C aufwärts (intramolekulare?) Veränderungen durchmacht, die zum Verlust seiner typischen Gelinewirkung führen. Bei UP II ist schließlich die Bal- lungswirkung von Plasma und Serum gleich groß, d.h. das Fibrinogen erscheint bezüglich der Erythrocytensenkung völlig inaktiviert. Es wäre nun anzunehmen gewesen, daß die Senkungswerte von Plasma- und Serumblut bei den über UP I liegenden Fraktionen dieselben wären. Dies ist jedoch nicht der Fall.

Die entsprechenden Kurven weisen zwar bis UP II einen parallelen Verlauf auf, doch ist nun die Ballungswirkung des Plasmas geringer als die des Serums, was somit eine hemmende Wirkung von denaturierten Fibrinogenresten annehmen läßt, die trotz Abzentrifugieren des koagulierten Fibrinogens in gelöster oder zumindest unsichtbarer Form im Plasma verblieben sind. Sie würden zwar die Viscosität des Plasmas erhöhen, die Ballung der Erythrocyten aber nicht beein- flussen. Warum dann ab UP II das Plasma erneut stärker wirksam ist, entzieht

sich vorerst einer begründbaren Ausdeutung. Eine erneute Veränderung der Molekülbruchstücke mit Wiederkehr von Ballungswirkung wäre in Erwägung zu ziehen. Eine Entknäuelung und Streckung vorher denaturierter Fibrinogenmolekel könnte man sich vorstellen.

Zwischen den beiden Umschlagpunkten nimmt die Ballungswirkung sowohl des Plasmas als auch des Serums im gleichen Maße zu. Es sind also in diesem Bereich nur Proteine des Serums, nicht aber Fibrinogenreste an der Zunahme der Ballungswirkung ursächlich beteiligt. Die Reaktivierung der Fibrinogenreste erfolgt erst dicht vor UP II.

Selbstverständlich darf dieser Ausdeutungsversuch nicht als bewiesen gelten, sondern stellt vorläufig nur eine Hypothese dar, die keinen Anspruch auf Gültigkeit erhebt.

Es bleibt noch zu erwähnen, daß Fibrinogen nach den vorliegenden Versuchsergebnissen nicht, wie in namhaften Lehrbüchern zuweilen angegeben wird, erst bei 56°C , sondern bei 47°C geflockt wird. Allerdings ist bei dieser Temperatur eine Erwärmzeit von über 40 Minuten zur völligen Koagulation erforderlich. Bei 49°C koaguliert das Fibrinogen nach 20 Minuten und bei 51°C schon nach 10 Minuten vollständig, mit Ausnahme jener Reste, die bei Erwärmung über 57°C durch die Wiederkehr ihrer Ballungswirkung nachweisbar werden.

Der Nachweis solcher Fibrinogenreste nach Entfernen des durch Erwärmen koagulierten Fibrinogens darf als besonderes Ergebnis dieser Studie hervorgehoben werden. Durch Erwärmen auf Temperaturen bis 60°C wird also Fibrinogen nicht vollständig koaguliert, sondern es verbleibt ein Rest von gelösten Fibrinogenbruchstücken als Denaturierungsprodukt im Serum.

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit stellt einen Versuch dar, die Wirkung von Wärmebehandlung des Plasmas und Serums auf die Differentialblutsenkung zu ermitteln.

Es zeigte sich, daß die Ballungswirkung von Plasma und Serum mit zunehmender Erwärmung nicht etwa gleichmäßig zu- oder abnimmt, sondern daß es im Temperaturbereich von 20°C bis 60°C zwar sehr wechselnde, aber charakteristische Schwankungen gibt.

Abb. 10 zeigt eine schematische Übersicht über die Veränderungen der Ballungswirkung von Plasma und Serum.

Die Ballungswirkung des Plasmas macht bis 45°C keine greifbaren Veränderungen durch. Von 45° bis etwa 50°C nimmt jedoch die Ballungswirkung unter Auftreten von Trübung und Flockung stark ab und steigt nach Erreichen des Tiefpunktes um 50°C allmählich wieder an, um bei 59°C ihre ursprüngliche Stärke wieder zu erreichen.

Die Ballungswirkung des Serums behält bis etwa 50°C einen gleichbleibenden Wert. Bei höheren Temperaturen übertrifft jedoch die Sedimentierungsgeschwindigkeit der Erythrocyten im Serum gegenüber der Sedimentierungsgeschwindigkeit im Plasma und steigt bis etwa 58°C parallel zu dieser an. An diesem Punkt überschneiden sich die beiden Kurven ein zweites Mal, so daß sich die Erythrocyten im Plasma neuerdings schneller senken als im Serum. Einem Maximum der Sedimentierungsgeschwindigkeit bei 59°C steht ein leichter Abfall bei 60° gegenüber.

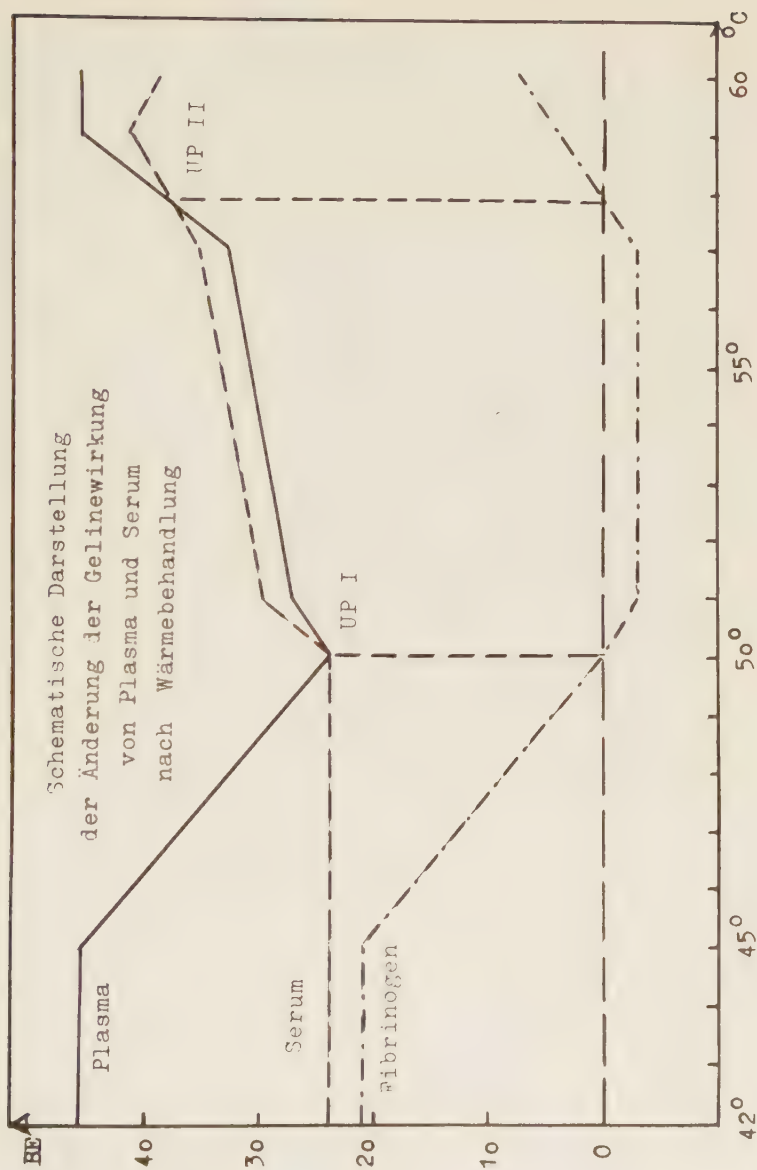
Das Fibrinogen dürfte für den größten Teil der Veränderungen im Plasma verantwortlich sein. Es denaturiert ab 45°C und verliert dabei fortschreitend seine Ballungswirkung. Bei 47°C beginnt das Fibrinogen zu koagulieren und als flockige Trübung, die die Sedimentation mechanisch hemmt, im Plasma aufzutreten. Bei etwa 50°C ist die Ballungswirkung des Fibrinogens erloschen, doch scheinen im Plasma Bruchstücke des Moleküls in gelöster Form erhalten zu bleiben, die eine senkungshemmende Wirkung - vielleicht infolge einer Erhöhung der Plasmaviscosität - bis etwa 57°C unverändert beibehalten. Bei höherer Erwärmung wird diese Wirkung durch einen zunehmend senkungsbeschleunigenden Effekt überlagert, der zwischen 57° und 59°C überwiegt, so daß die Sedimentation im Plasma schneller erfolgt als im Serum.

Die Dauer der Wärmebehandlung hat nur beim Plasma entscheidende Bedeutung

und auch nur dort, wo die Ballungswirkung des Fibrinogens (zwischen 45°C und UP I bei etwa 50°C) bis Null abgebaut wird. Sie wirkt sich dahingehend aus, daß bei längerer Wärmeeinwirkung der angestrebte Zustand schon bei etwas niedrigeren Temperaturen erreicht wird.

Auf welcher Veränderung die Zunahme der Ballungswirkung sowohl des Plasmas als auch des Serums ab 50°C beruht, läßt sich nicht mit Sicherheit entscheiden, doch ist eine Entknäuelung und nachfolgende Streckung der verbleibenden Fibrinogenbruchstücke mit Wahrscheinlichkeit anzunehmen.

Es sei noch gesondert darauf hingewiesen, daß der Anstieg der Ballungswirkung zwischen 50°C und 57°C ausschließlich auf Bestandteile des Serums zurückzuführen ist, da die Plasmawirkung völlig parallel dazu verläuft und erst bei 57°C eine selbständige Veränderung erfährt, die auf die oben erwähnte Wirkung der Fibrinogenbruchstücke zurückgeführt werden muß.



Literatur

- Frimberger: Differential-Blutsenkung 1958
- Frimberger: Theoretisches und Technisches zur Methode der Differential-Blutsenkung (DBS) 1959
- Frimberger: Differential-Blutsenkung bei Anämien 1960
- Frimberger: Differential-Blutsenkung vor und nach Behandlung des Blutes mit Wärme 1963
- Hitzig: Die Plasmaproteine in der Klinischen Medizin 1963
- Kruschke: Differentialblutsenkung bei Lungentuberkulose 1961
- Leffkowitz: Die Blutkörperchensenkung 1936
- Otto u. a. : Chemie und Physiologie des Eiweißes 1938
- Reichel: Blutkörperchensenkung 1936
- Schulz: Das Fibrinogen 1953
- Wuhrmann und Wunderly: Die Bluteiweißkörper des Menschen 1957

Lebenslauf

Ich wurde am 1. Juli 1940 als Sohn des Bauingenieurs Ludwig Stetter (+) und seiner Ehefrau Julie Stetter, geb. Hilbrand in Kempten/Allgäu geboren. 1946 trat ich der dortigen Volksschule bei und wechselte nach der 4. Klasse an die Oberrealschule Kempten, wo ich 1959 das Abitur bestand.

Nach Ableistung meines Wehrdienstes und Entlassung als Fahnenjunker d. Res. immatrikulierte ich mich 1960 an der Medizinischen Fakultät der Universität München und legte dort nach dem 5. Semester das Physikum ab.

Nachdem ich in den beiden folgenden Semestern in Kiel und Wien studiert hatte, kehrte ich im 8. Studiensemester nach München zurück, wo ich mein Studium nach dem 11. Semester mit dem Staatsexamen abschloß.

Dank

Das Entstehen dieser Arbeit verdanke ich in erster Linie Herrn Priv. Doz. Dr. Ferdinand Frimberger, Chefarzt der Inneren Abteilung des Stadtkrankenhauses Kempten, der mir das Thema freundlicherweise zur Bearbeitung überlies, mich mit Umsicht in Theorie und Praxis der Differentialblutsenkung einwies und keine Mühe scheute, mich sowohl bei der Durchführung der Versuche als auch bei der Niederschrift der Ergebnisse durch wertvolle Ratschläge zu unterstützen.

Weiterhin bedanke ich mich bei den Ärzten und Schwestern der Stationen, die mir bei den Blutentnahmen behilflich waren, sowie bei den medizinisch-technischen Assistentinnen des Labors, insbesondere bei Frä. Korselt und Frä. Burzin, die mir sowohl bei der Materialbeschaffung als auch bei der Durchführung der Versuche zur Seite standen.

Besonderen Dank verdienen schließlich die zahlreichen ungenannten Patienten, ohne deren Erlaubnis Blut zu entnehmen, die Arbeit nicht hätte geschrieben werden können.

